

## 在外研究報告

### レシチン：コレステロール・ アシルトランスフェラーゼについて

光 永 俊 郎

わが国の死亡原因は、第一位が脳卒中、次にガン、心臓病の順で、欧米先進諸国では、心臓病が最も多いのに比べて、極めて特徴的であった。しかし、最近わが国でも心臓病による死亡率が増加してきた。とくに、心臓病のうち、冠状動脈にコレステロールが沈着して“粥状硬化”をおこし、血液の通りが悪くなって詰まり、心臓が動かなくなる心筋梗塞症が著しく増加してきた。この心筋梗塞症の主要な危険因子の一つは、高脂血症であるといわれている。血液中にはトリグリセリド、コレステロール、磷脂質、脂肪酸などの脂質がタンパク質と結合体をつくり存在している。これを一般にリポタンパク質と呼んでいる。高脂血症という症状は、この血漿中にリポタンパク質の型で存在する脂質の含有量が正常域(成人の場合、血漿中には、50~140mg/100mlのトリグリセリドと150~230mg/100mlのコレステロールが含まれている。)を超えて増加する状態のことである。この原因は、従来われわれ日本人の食事習慣が米食を中心とした塩分の過剰摂取、低タンパク食であったのに比し、最近では、欧米なみの高カロリー食および高コレステロール食に移行しつつあるためと考えられる。

この心筋梗塞症の発生率の極めて高い欧米諸国では永年この原因を究明するべく、多くの学者の手により探究されてきた。とくに、ここ数年この分野の研究は、アメリカを中心にした数研究グループによる活発な研究活動の結果、著しい進歩が示されている。筆者も昨年一年間、イリノイ大学のバンサイド研究所でこれらの研究グループの一つに加わり、リポタンパク質の代謝に関連する酵素、レシチン：コレステロール・アシルトランスフェラーゼ(以下LCATとする。EC 2.3.1.43)の研究に従事してきた。そこで留学報告をかねて、リポタンパク質とLCATについて簡単に解説をする。ただ、現在研究結果については投稿準備

中なので、オリジナル・データは示さず要約にとどめる。

#### 1. 血漿リポタンパク質\*

われわれにとって脂質(トリグリセリド、コレステロール、磷脂質)はエネルギー源として、膜成分の構成員として、また生理活性物質として、極めて重要な働きをする物質である。これらの脂質は食餌として摂取されたものが腸内において胰臓リパーゼ、コレステロール、エステラーゼなどの作用で加水分解され、吸収される。次に小腸粘膜中で再びエステル化反応をうけて、トリグリセリドなどの脂質に再構成されて血液の中に出る。また脂肪組織に貯えられたり、肝臓などの組織中で合成された脂質も、体の必要に応じて動員されて、各種の組織細胞に運ばれる。このように水に溶けない脂質が一つの組織から他の組織に運ばれる際にはリポタンパク質の型で血液中を流れる。

これらの血漿中のリポタンパク質は、中心部は疎水性のトリグリセリド及びコレステロールエステルよりなり、その周囲をタンパク質(アポタンパク質)、磷脂質(主としてレシチン)及びコレステロールといった親水性基をもつ化合物がとりかこみ、これらの化合物がお互いに疎水性結合、水素結合、イオン性結合などで弱く結合した集合体の型をした直径50~10,000Åの水溶性の球状粒子を形成している。(図1参照)

現在リポタンパク質は、超遠心分離法で分画され、比重の小さいリポタンパク質群( $d=0.93\sim1.09$ )と比重の大きいリポタンパク質群( $d=1.09\sim1.25$ )に大別されている。さらに表-1<sup>3)</sup>で示すごとく比重の小さいものから大きいものの順にカイロマイクロン、超低比重リポタンパク質(VLDL)、低比重リポタンパク質(LDL)、高比重リポタンパク質(HDL<sub>2</sub>)、高比重リポタンパク質(HDL<sub>3</sub>)及び超高比重リポタン

\* 以下、リポタンパク質とする。

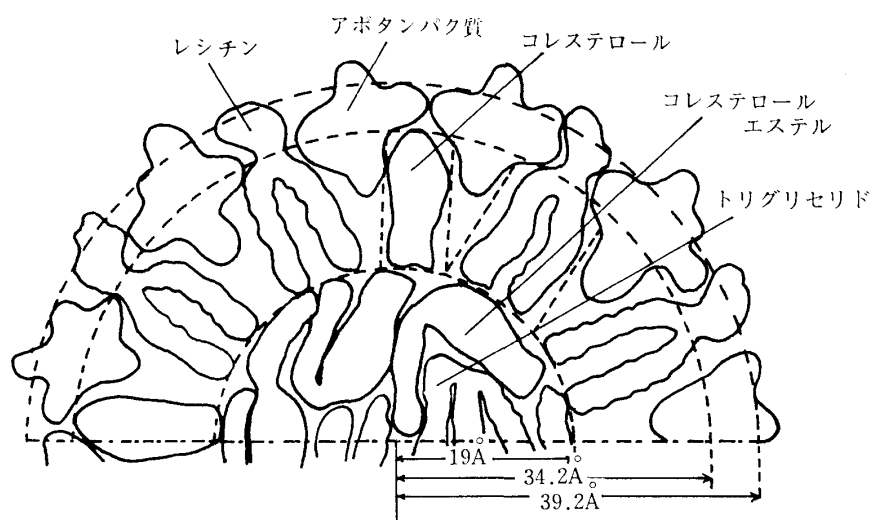
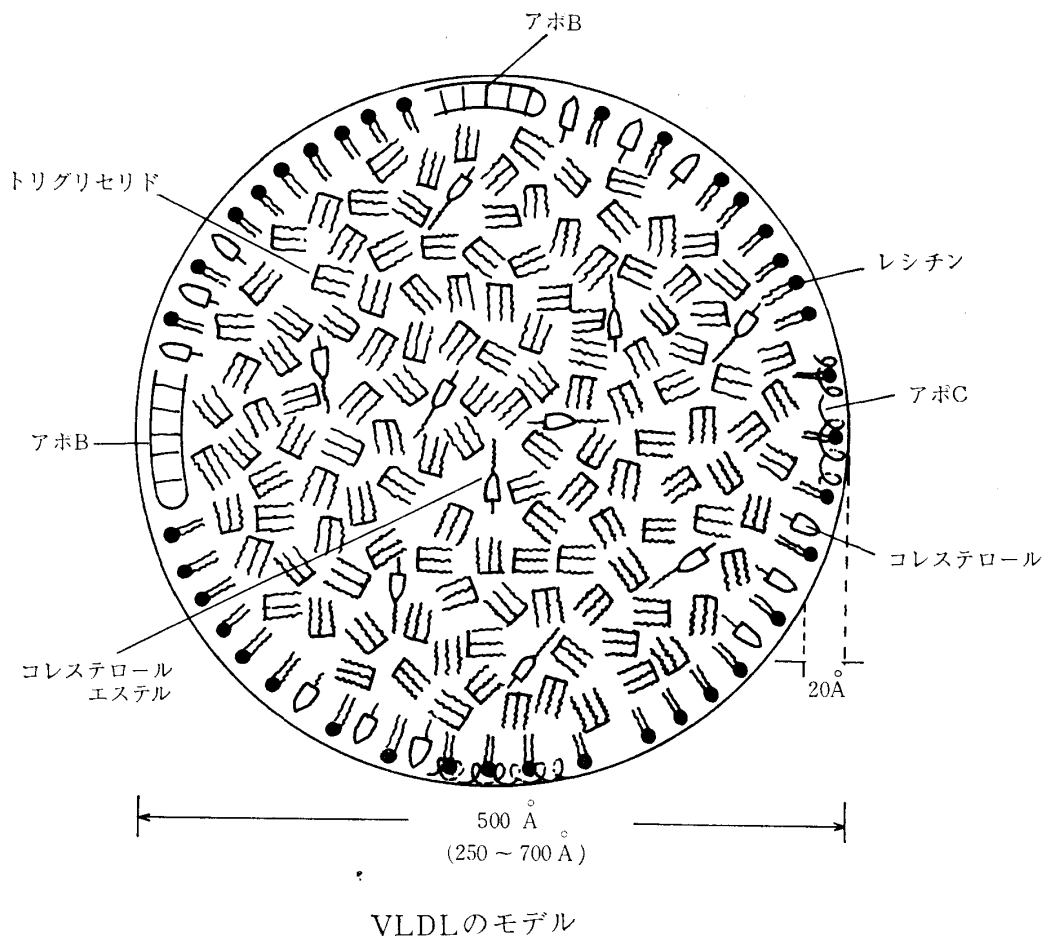


図1 リポタンパク質のモデル<sup>1,2)</sup>

表1 血漿リポタンパク質の分類と組成<sup>3)</sup>

分 類		カイロ マイクロン	VLDL	LDL	HDL <sub>2</sub>	HDL <sub>3</sub>	VHDL
直 径 (Å)		700 ~10,000	300~700	200~300	70~100	40~70	
比 重 (g/ml)		0.93	0.97 (0.94 ~1.01)	1.03 (1.01 ~1.05)	1.094 (1.063 ~1.125)	1.145 (1.125 ~1.21)	1.25
分 子 量		3×10 <sup>11</sup> ~12×10 <sup>6</sup>	12×10 <sup>6</sup> ~5×10 <sup>6</sup>	3×10 <sup>6</sup> ~1×10 <sup>6</sup>	3.6×10 <sup>5</sup>	1.75×10 <sup>5</sup>	1.51×10 <sup>5</sup>
平 均 含 有 量 (男性)		12±2	129±59	439±99			
(mg/100ml) (女性)		13±3	122±63	389±79			
組 成 タンパク質(%)		2	8	21	45	55	
脂 質(%)		98	92	79	55	45	
脂 質 組 成							
コレステロールエステル		3	13	47	23	39	
コレステロール		1	8	10	9	6	
トリグリセリド		88	55	14	3	4	
燐 脂 質		8	20	28	65	51	
遊 離 脂 肪 酸		1	2	1	0	0	

表2 血漿リポタンパク質中のアポタンパク質の含有量<sup>4)</sup> (%)

リポタンパク質 アポタンパク質	カイロ マイクロン	VLDL	LDL	HDL <sub>2</sub>	HDL <sub>3</sub>	VHDL
A-I	2-3	2-3	0	87-91	68-77	95
A-II	1.0-1.5	0.2-0.4	0	4-7	15-25	0.2
A-III(D)	1	0.1-0.3	0-1	0	1.5-2.1	0
B	20-22	55-60	95	2-3	0	0
C-I	11-12	8-10	0.2-0.4	1.0-1.6	1.2-1.6	0
C-II	15-16	9-11	0	0.3	0.3-0.8	0
C-III <sub>1</sub>	20-22	11-12	0.1-0.2	1.2-1.5	1.4-2.0	0-0.5
C-III <sub>2</sub>	21-22	10-11	0.2-0.3	1.2-1.7	1.4-2.0	0-0.5
E	6-8	8-12	0	0	3-5	0

パク質 (VHDL) に分けられている。

これらの各リポタンパク質の脂質組成とともに構成タンパク質であるアポタンパク質の種類、含有量も詳細に調べられている<sup>4)</sup>。(表-2参照)これらのアポタンパク質のうちA-I, A-II, C-I, C-II, 及びC-IIIの5種の一次構造は決められている<sup>5)</sup>。これらのアポタンパク質は脂質との結合性をもつが、そのアミノ

酸配列は膜タンパク質に特徴的に見られる疎水性アミノ酸のクラスターの配列を持たない。またA-Iに特徴的に見られるように、これらのタンパク質は燐脂質との相互作用を通じて $\alpha$ -ヘリックス型の円二色性を強める。それで燐脂質の膜とイオン性及び疎水性の二種類の相互作用をして、両親媒性ヘリックスを形成すると予想されている<sup>6)</sup>。これに対してカイロマイクロン、

表3 アポタンパク質の性質

アポタンパク質	分子量	アミノ酸 残基数	糖	作用	生合成部位
A-I	28,300	243	+	LCAT 活性	小腸, 肝臓
A-II	17,000	154	±	?	小腸, 肝臓
A-III(D)	22,100	?	?	?	?
B	?	?	5%	トリグリセリド移送	小腸, 肝臓
C-I	6,331	57	0	{LCAT活性? リパーゼ活性?	肝臓
C-II	8,837	78	0	リパーゼ活性	肝臓
C-III	8,764	79	+	リパーゼ阻害	肝臓
E	33,000	?	?	?	肝臓 小腸

VLDL, LDL などの低比重のリポタンパク質の主要アポタンパク質であるBは水に不溶性のタンパク質で、分子量数万のポリペプチドを単量体として会合した巨大分子とも、分子量25~36万の巨大ペプチドが2本で二量体をつくっているともいわれているが、その性質については、まだ解明されていない。

## 2. リポタンパク質の代謝

これらのリポタンパク質の代謝に関する研究はこの数年著しい進歩が認められている。これはリポタンパク質研究の分野への新しい技術や方法の導入とともに先天性脂質代謝異常の臨床例の発見によるところも大きい。これらの代表的な疾患にはリポタンパク・リパーゼ欠損症や LDL の受容体の欠損している家族性高コレステロール血症、また LCAT の欠損している家族性 LCAT 欠損症などが挙げられる。

小腸で合成されたばかりのトリグリセリドを多量に含んでいるカイロマイクロンは直径 700~10,000 Å の巨大粒子である。このリポタンパク質の主成分のトリグリセリドは血液中でリパーゼによって加水分解されて、脂肪酸とグリセリンになる。生じた脂肪酸はアルブミンと結合して、グリセリンはそのまま、それぞれカイロマイクロンから離れて血液中に出る。しだいにトリグリセリドが少なくなったカイロマイクロンはコレステロール、磷脂質などの脂質やアポB以外のアポタンパク質を放出し、粒子径が小さくなる。そして一部は LDL や HDL を生じ、一部は肝臓で異化される<sup>3,8)</sup>。

また肝臓から血液中に出された VLDL もリパーゼ

の作用によりトリグリセリドを失い、粒子径が小さくなる。そして中間物質 (IDL) を経て LDL に転換される。その際にコレステロール、磷脂質およびアポCは HDL に移行すると考えられている。

生じた LDL はアポB、コレステロールエステル、磷脂質を主成分とするリポタンパク質である。直径 300~1,000 Å の VLDL-分子から直径 200 Å の LDL-分子が生じる。この転換で全体の大きさに変化があるにもかかわらず、アポBの絶対量に変化がないことが知られている。LDL は血漿中で最も量の多いリポタンパク質でコレステロールエステルを主成分とするところから、心筋梗塞症の発生原因と目されてきた。しかし今のところ、まだはっきりとした LDL の役割は示されていない。次にこの LDL は肝臓の非実質細胞の膜にある LDL 受容体によって捕獲されて、肝臓で異化される。また周辺組織細胞には LDL 受容体を細胞膜にもつものが多く、このような受容体にとられた LDL は細胞内にとりこまれて異化をうけると同時に、細胞が必要とするコレステロールエステルを供給する。コレステロールエステルは加水分解されて、コレステロールを遊離し、このコレステロールは細胞膜の構成成分やその他細胞の必要とする物質に作りかえられる<sup>9)</sup>。

HDL はカイロマイクロンや VLDL の代謝過程で生成するとともに肝臓や小腸で合成されて、血液に出てくる。生成初期の HDL は球状粒子でなく、円盤状の構造をしている。それが LCAT により表面にあったコレステロールがコレステロールエステルになると、HDL の中心部に移行し、HDL は球状になる。最近行なわれた疫学調査において心臓疾患の罹患率と

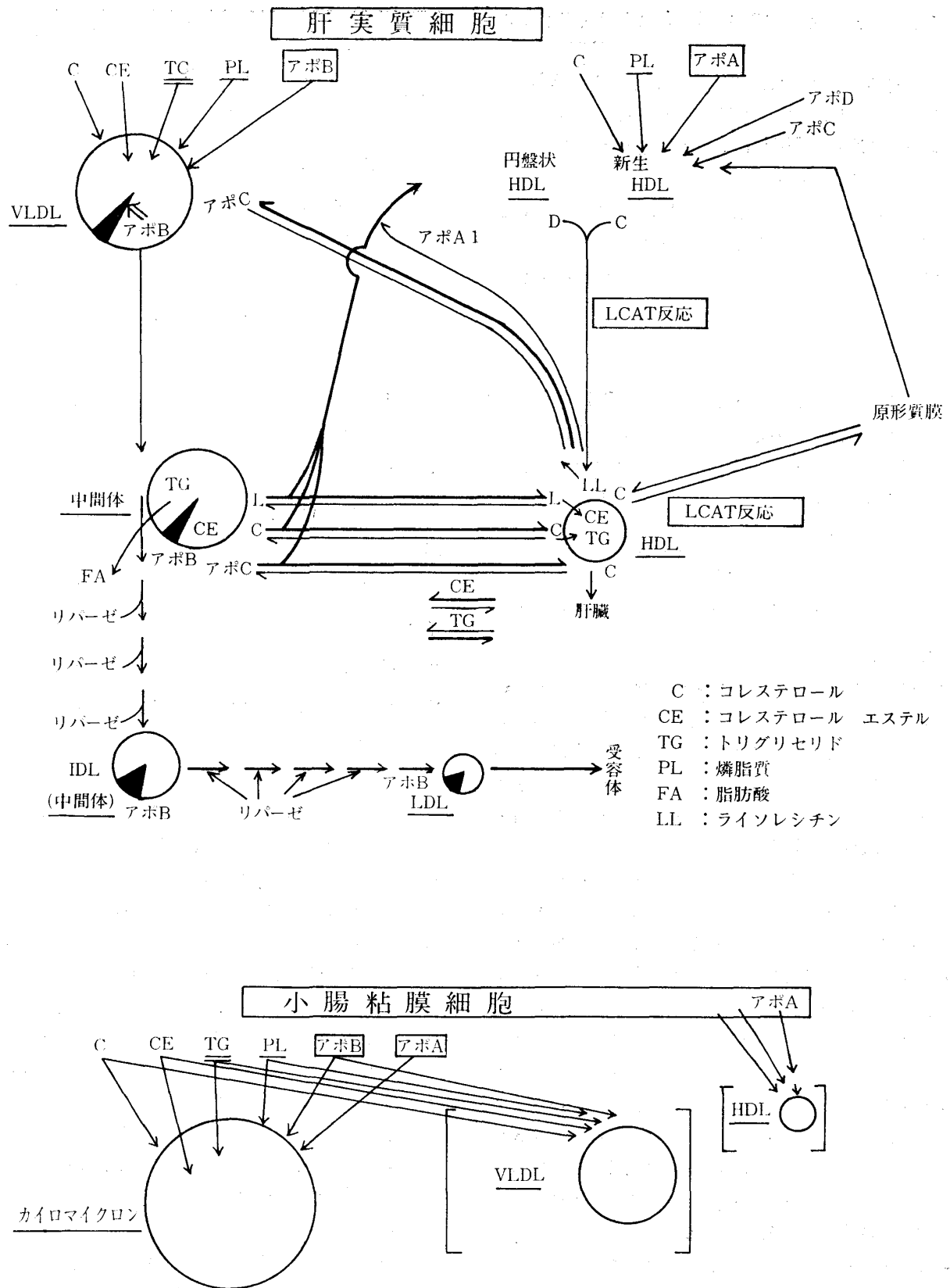


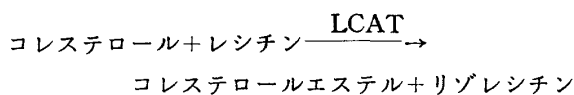
図2 リポタンパク質の代謝

血漿中の HDL 濃度との間には高い負の相関関係があることが報告<sup>10)</sup>されて以来、HDL に対する関心は著しく高まっている。心筋梗塞症の予防に HDL がどのように関与するか、まだ明らかではないが、VLDL、LDL などのリポタンパク質による血管壁へのコレステロールの沈着が HDL により取り除かれるのではないかと考えられている。

これらのリポタンパク質の代謝について要約すると図-2のごとくになる。しかしこの図も推測の領域にある個所もあり、現在なおこれらの代謝経過には不明な点が多々ある。

### 3. LCAT

最近注目されているリポタンパク質 HDL を超遠心画分により血漿中より取り出すと、この画分に LCAT の存在が認められる。この LCAT は肝臓で合成され、血液中に分泌される。そして次の反応を触媒することがわかっている。



すなわちレシチンの 2 位の脂肪酸をコレステロールの 3 $\beta$ -水酸基に直接トランスエステル化し、コレステロールエステルとリゾレシチンを生成する<sup>10)</sup>。この酵素反応で生成したコレステロールエステルの生理的役割の一つは血漿リポタンパク質の構造を保つ上に必要であり<sup>11)</sup>、また別の機能としてコレステロールを末梢細胞より肝臓へ運ぶ担送形である。

コレステロールを中心にリポタンパク質の代謝において LCAT の生理的重要性から、多くの研究者によりこの酵素の分離、精製が試みられていた。最近数研究グループがその精製に成功した<sup>13~18)</sup>。これらの結果、この酵素は表-4に示すときアミノ酸組成の分子量65,000~69,000の糖タンパク質であることが明らかにされた。炭水化物部分は重量の24%を占め、酵素1モルあたり、31モルのマンノース、30モルのガラクトース、17モルのグルコサミン、13モルのシアル酸が含まれている<sup>18)</sup>。しかし LCAT は粗製の状態では安定であるが、精製されて均一な状態になると極めて不安定で、数時間で完全に酵素としての性質を失う。この点が LCAT の研究の大きな障害であり、酵素としての性質、作用機構がほとんど明らかにされていない原因であった。ところが筆者の加わった研究グループが精製 LCAT の安定性が溶媒のイオン強度に影響されることを発見した<sup>19)</sup>。すなわち精製された LCAT

表4 LCATのアミノ酸組成

アミノ酸	Moles/10 <sup>5</sup> g protein			
	文献14	文献15	文献16	文献17
リジン	28	31	26	31
ヒスチジン	27	26	22	26
アルギニン	40	38	34	41
アスパラギン酸	80	74	75	82
スレオニン	48	44	46	55
セリン	49	50	48	56
グルタミン酸	83	92	80	93
プロリン	84	76	64	78
グリシン	74	88	77	85
アラニン	48	51	49	60
半-シスチン	8	N.D.	6	8
バリン	61	46	51	61
メチオニン	18	16	15	16
イソロイシン	37	28	32	39
ロイシン	106	92	89	102
チロシン	40	38	32	29
フェニルアラニン	39	37	35	32
トリプトファン	22	N.D.	N.D.	15

は 37°C で 0.01 のイオン強度の磷酸緩衝液中で 6 時間以上放置しても、酵素活性には何ら変化が認められない。けれども LCAT の安定性は緩衝液濃度の増加とともに、しだいに減少する。0.1 のイオン強度の磷酸緩衝液中では酵素活性の約 90% は 30 分後に失われる。しかしアポ A-I を加えると、その失活は防がれる。酵素活性を測定する際の基質であるレシチン-コレステロールベジクルや血漿アルブミンもまた LCAT を安定化することがわかった。

そこで筆者は LCAT の作用機構を明らかにするために LCAT と基質のリポタンパク質との相互作用について検討した。得られた結果を要約すると次のごとくである。

LCAT は HDL (HDL<sub>2</sub> 画分, HDL<sub>3</sub> 画分) を基質としてコレステロールエステルを生成する。イオン強度 0.16 の磷酸緩衝液中で LCAT は HDL, HDL<sub>2</sub>, HDL<sub>3</sub> それぞれと結合するけれども、LDL および VLDL とは親和性を示さない。しかし溶媒のイオン強度を増す

と LDL および VLDL とも結合する。この親和性の増加はイオン強度を増すことにより、LCATの表面に結合部位が多く露出してくることと、リポタンパク質のタンパク質部分の負の荷電と LCAT の負の荷電との反発が除去されることによると考えられる。

モデル系としてマルチバイレイヤーのレシチン-コレステロールもまた溶媒のイオン強度を増していくと LCAT に対する親和性が認められた。HDL<sub>2</sub> および HDL<sub>3</sub> に対する LCAT の親和性も溶媒のイオン強度に依存した。0.16 以下のイオン強度では各 HDL 画分に対してしだいに LCAT の親和性は減少した。完全な解離がイオン強度 0.025 で HDL<sub>2</sub>, HDL<sub>3</sub> に対して認められた。

次に LCAT と HDL との相互作用においてアポタンパク質 (A-I, A-II, C-I, C-II, C-III) の役割を明らかにするために HDL とくに HDL<sub>3</sub> 画分中のアポタンパク質の含有量をかえて検討した。HDL<sub>3</sub> をゲル濾過, 限外濾過, 超速心分画法で処理すると, HDL<sub>3</sub> よりアポタンパク質の脱離が認められる。とくにアポ A-I の減少が著しい。このアポタンパク質含有量の少なくなった HDL<sub>3</sub> は未処理の HDL<sub>3</sub> に比較して LCAT に対する親和性が強められた。逆に HDL<sub>3</sub> 中のアポタンパク質含有量を多くしていくと, HDL<sub>3</sub> は LCAT に対する親和性を示さなくなる。そしてこの親和性低下の効果はアポ A-I と A-II を比較すると, アポ A-II が著しく大きい。

さらにレシチン-コレステロールベジクルのモデル系で, この基質に結合しているアポタンパク質量をかえて, LCAT の基質に対する親和性とアポタンパク質の酵素反応に対する効果を調べた結果, HDL<sub>3</sub> を用いた実験と同じ傾向が認められた。そしてアポ A-I は LCAT の賦活剤として, A-II は阻害剤として作用した。とくに A-II の阻害作用機構は一般の酵素の阻害機構とことなり, 基質と LCAT の結合に A-II が関与して, 基質より LCAT を displacement することが明らかになった。このベジクルでのアポ A-II の阻害効果は A-I を添加しても可逆的ではなかった。このことはベジクルに対しても A-II が A-I より強い親和性をもつことを示している。これらのアポ A-II による LCAT の displacement も溶媒のイオン強度に影響され, イオン強度を増すことにより減少した。さらにこの反応にはアポ A-I, A-II だけでなく, カイロマイクロン, VLDL に含まれているアポ C-I, C-II, C-III も重要な働きをしていること, またレシチン, コレステロールなどの脂質組成も影響を与えた。その

上 HDL 画分以外のリポタンパク質 LDL, VLDL の存在についても無視して, 血液中での LCAT の作用機構を討議することができないことも明らかになった。

また LCAT とリポタンパク質との相互作用にはリポタンパク質の粒子の大きさ, 粒子表面のギャップの有無, 溶媒の pH も影響を与えることが明らかになった。さらに新鮮な血漿を 37°C でインキュベートすると, 時間経過にともない HDL<sub>3</sub> 画分が減少し, HDL<sub>2</sub> 画分が増加した。またイオン強度 0.16 で HDL<sub>3</sub> と LCAT の混合物はモル比 2 の複合体をつくるようである。

これらの結果より次のような事項が示唆される。

1. 血液中でリポタンパク質の代謝 (トリグリセリド, コレステロール) がおこる際に LCAT 反応によって, まずそのきっかけがつけられるようである。
2. アポ B を除く, すべての他のアポタンパク質はリポタンパク質の代謝において再循環される。そして血液中での LCAT およびリパーゼ反応が調節されているようである。
3. LCAT 反応は主として HDL<sub>3</sub> 上でおこり, 生成物として HDL<sub>2</sub> 画分が考えられる。この際 2 分子の HDL<sub>3</sub> より 1 分子の HDL<sub>2</sub> が生成するようである。
4. LCAT 反応は血液中のトリグリセリドの transport および LDL-経路を調節しているようである。

これからの二, 三年間でリポタンパク質の代謝についてはさらに著しい進歩が予測される。

最後に昨年一年アメリカにおいて第一線の研究者がいかにか厳しい条件下で仕事をやっているかを眼のあたりにしながら, 研究活動ができたことを感謝している。

## 引用文献

- 1) Morrisett, J.D., *Biochem. Biophys. Acta*, **472**, 93 (1977).
- 2) Edelstein, C., Kezdy, F.J., Scanu, A.M., and Shen, B.W., *J. Lipid Res.*, **20** 143 (1979).
- 3) Schaefer, E.J., Eisenberg, S. and Levy, R.I., *J. Lipid Res.*, **19**, 667 (1978).
- 4) Kostner, G.M., In: *Lipid Absorption: Biochemical and Clinical Aspects*, 1976, p203.
- 5) Osborne, J.C., Jr., and Brewer H.B., Jr., *Adv. Protein Chem.* **31**, 253 (1978).
- 6) 猪飼 篤, 生化学 **52**, 23 (1980).

- 7) Smith, R., Dawson, J.R. and Tanford, C., *J. Biol. Chem.* **247**, 3376 (1972).
- 8) Tall, A.R., and Small, D.M., *New Eng. J. Med.*, **299**, 1232 (1978).
- 9) Goldstein, J.L., and Brown, M.S., *Ann. Rev. Biochem.* **46**, 897 (1977).
- 10) Gordon, T., Castelli, W.P., Hjorthland, M. C., Kannel, W.B., and Dawber, T.R., *Am. J. Med.* **62**, 707 (1977).
- 11) Glomset, J.A., *J. Lipid Res.* **9**, 155 (1968).
- 12) Glomset, J.A., and Norum, K.R., *Adv. Lipid Res.* **11**, 1 (1973).
- 13) Albers, J.J., Cabana, V.G., and Dee Barden, Y., *Biochemistry* **15**, 1084 (1976),
- 14) Doi, Y., and Nishida, T., *Methods in Enzymology* **29**, (1980).
- 15) Varma, K.G., and Sotoff, L.A., *Biochem. J.* **155**, 583 (1976).
- 16) Albers, J.J., Lin, J., and Roberts, G.P., *Artery* **5**, 61 (1979).
- 17) Aron, L., Jones, S. and Fiedling, C.J., *J. Biol. Chem.* **253**, 7220 (1978).
- 18) Chang, J., Abano, D.A., Fless, G.M., and Scanu, A., *J. Biol. Chem.* **254**, 7456 (1979).
- 19) Furukawa, F., and Nishida, T., *J. Biol. Chem.* **254**, 7213 (1979).